

大斑芜菁滞育幼虫在滞育不同阶段体内糖类和醇类含量的变化

朱 芬, 李 红, 王 永, 王小平, 周兴苗, 黄 文, 雷朝亮*

(华中农业大学植物科技学院, 武汉 430070)

摘要:在以卵滞育的昆虫中昆虫滞育时的生理代谢特点已经得到了大量研究。本文对以末龄幼虫(5龄)滞育的大斑芜菁 *Mylabris phalerata* (Pallas) 在不同滞育阶段体内糖类和醇类代谢的特征进行了研究。结果表明:滞育个体血淋巴中的海藻糖含量高于非滞育个体,且随滞育时间的加大逐渐升高,滞育5个月时达到最大值,为 $5.61 \mu\text{mol/mL}$ 。糖原的含量随滞育的进程逐渐减少,滞育初期(0.5个月)为 0.72 mg/mL ,到滞育末期(5个月)时仅为 0.1 mg/mL 。滞育个体脂肪体中的海藻糖含量都高于非滞育个体,滞育1个月时为非滞育个体的3倍,至滞育末期时达非滞育个体的5倍,为 $2.5 \mu\text{mol/g}$ 脂肪体。糖原含量总体变化趋势是随滞育时间的加大逐渐减少,滞育早期和中期都高于非滞育个体。在滞育过程中血淋巴积累的小分子多元醇主要为甘油,其次是山梨醇;而在脂肪体中主要为甘油,其次是甘露醇,少量积累山梨醇;表明大斑芜菁滞育幼虫主要积累的是海藻糖和一些小分子多元醇。滞育幼虫在准备滞育时储备了大量糖原,这些糖原可能为滞育期间海藻糖、山梨醇和甘油的代谢提供了原料。

关键词:大斑芜菁;滞育时间;海藻糖;糖原;多元醇;代谢

中图分类号:Q965 文献标识码:A 文章编号:0454-6296(2008)01-0009-05

Change of trehalose, glycogen and polyol contents of the diapausing larvae of *Mylabris phalerata* (Pallas) (Coleoptera: Meloidae) at different diapausing stages

ZHU Fen, LI Hong, WANG Yong, WANG Xiao-Ping, ZHOU Xing-Miao, HUANG Wen, LEI Chao-Liang*
(College of Plant Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: Blister beetle, *Mylabris phalerata* (Pallas) (Coleoptera: Meloidae), natural enemy of *Chondracris rosea rosea* (De Geer) (Orthoptera: Acridiidae) and important Chinese medicine material, has important economic significance. In this research, influence of diapause duration on trehalose, glycogen and polyol metabolism of the diapausing larvae of *M. phalerata* was examined. The results indicated that trehalose content in diapause larvae haemolymph, higher than non-diapausing larvae, was increased with the extension of the diapause duration: the maximal was $5.61 \mu\text{mol/mL}$, which appeared in haemolymph of larvae diapaused for 5 months. During the diapause, glycogen content showed linear decrease: glycogen content was 0.72 mg/mL early in 0.5 month of diapause, but only 0.1 mg/mL at the end of diapause (5 months). Trehalose content in fat body in diapausing larvae was higher than in non-diapausing larvae, which was three times as high as that in non-diapausing larvae in one month of diapause, and five times as high as that in non-diapausing larvae in 5 months of diapause ($2.5 \mu\text{mol/g}$ fat body). Glycogen content were decreasing during the diapause: in the early and middle period of diapause, glycogen content in fat body of the diapausing larvae was higher than in non-diapause larvae. Polyol in the haemolymph of the diapausing larvae was mainly glycerol, next was sorbitol; but in fat body was mainly glycerol, next sorbitol and a little mannitol. These suggested that diapausing larvae accumulated trehalose and some polyol, but not glycogen. The content of glycogen decreased

基金项目:“十一·五”国家科技支撑计划项目(2006BAD06B07)

作者简介:朱芬,女,1977年生,土家族,湖北恩施人,博士,从事昆虫生理生态学研究, E-mail: zhufen@mail.hzau.edu.cn

* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: ioir@mail.hzau.edu.cn

收稿日期 Received: 2007-07-16; 接受日期 Accepted: 2007-09-17

with the development of diapause. Thus glycogen may offer carbon source for producing trehalose, sorbitol, or glycerol.

Key words: *Mylabris phalerata*; diapause duration; trehalose; glycogen; polyol; metabolism

滞育是昆虫长期适应不良环境而形成的种的遗传性。是否发生滞育常取决于昆虫前一发育阶段的外界环境条件,在生理上也有一个准备过程。滞育常始于不良环境真正开始之前,而滞育终止并不与逆境的结束相符,当适宜的环境条件恢复时还要持续一段时间。滞育时特殊的生理代谢是使得昆虫在极端环境条件下能够成功存活的一种适应,在许多昆虫中已进行了大量研究(Mansingh, 1971; Tauber *et al.*, 1986; Storey and Storey, 1988; Denlinger, 1991)。甘油是许多越冬滞育昆虫血淋巴中常见积累的醇类物质之一(Somme, 1982),但也有少数种类积累其他醇类物质,如山梨醇、肌醇、苏糖醇、核糖醇,甚至有些昆虫不积累醇类物质,而积累海藻糖或果糖(Gehrken, 1984; Shimada *et al.*, 1984; Hamilton *et al.*, 1985; Storey and Storey, 1986; Hoshikawa, 1987)。但是,在脂肪体中糖原是昆虫代谢的主要能源(Storey and Storey, 1991)。许多研究都证实上述醇或糖的合成与滞育状态有一定关系(Lee *et al.*, 1987; Pullin and Bale, 1989)。

目前,许多滞育生理的研究都集中于光周期对滞育的诱导,而对温度诱导滞育昆虫的生理代谢研究很少。很多研究表明大多数滞育昆虫都具有相似的生理生化特征,如在滞育期间积累大量的小分子醇类或糖类等(Somme, 1982; Storey and Storey, 1991)。这两类物质能为昆虫在遭遇极端环境条件时提供可靠保障(Pullin and Wolda, 1993; Ring and Danks, 1994)。大斑芜菁 *Mylabris phalerata* (Pallas) 属于鞘翅目芜菁科(Meloidae),在自然条件下,末龄(5龄)幼虫的滞育长达5个多月,在其滞育诱导和维持中温度发挥了主要作用(Zhu *et al.*, 2006)。本实验针对不同滞育阶段的大斑芜菁幼虫,研究了其生理代谢特征,探索了其体内海藻糖、糖原以及小分子多元醇类物质在滞育期间的代谢规律,并探讨了这些糖类在大斑芜菁滞育维持中的作用。

1 材料与方法

1.1 虫源

大斑芜菁成虫采自大别山天堂寨(湖北省黄冈县)。成虫在室内纱笼(长×宽×高:100 cm×100

cm×300 cm)中以豇豆花和丝瓜花饲养。每天检查并收集新产的卵块于塑料杯中(底部直径4 cm,开口顶端直径9 cm,高7 cm),底部覆盖适量湿度的沙子,于20℃(可诱导滞育的条件)和30℃(可避开滞育的条件)下饲养(Zhu *et al.*, 2006)。孵化后的幼虫单头饲养,以防自相残杀。每头幼虫提供一块蝗虫卵块作为食料,每天观察并记录发育情况,直到第5龄。以0表示非滞育个体;0.5, 1, 2, 3, 4, 5表示滞育时间分别为0.5, 1, 2, 3, 4, 5个月的个体。

1.2 血淋巴样品的制备

血淋巴在冰浴条件下收集。从胸足基部剪断,用微量吸管收集血淋巴于1.5 mL离心管中(预冷,加入少许苯基硫脲),10 000 r/min离心5 min,除去血细胞等,弃沉淀,上清液于-20℃条件下保存备用。每处理取10头,实验重复3次。

1.3 脂肪体样品的制备

在冰浴中解剖幼虫脂肪体,称重,加入预冷的Ringer溶液匀浆,10 000 r/min离心5 min,弃沉淀,上清液于-20℃条件下保存备用。每处理取10头,实验重复3次。

1.4 海藻糖、糖原和小分子醇类含量的测定

海藻糖、糖原和小分子多元醇含量的测定,参照Goto等(1993)方法。

2 结果与分析

2.1 滞育时间对大斑芜菁滞育幼虫血淋巴中海藻糖和糖原代谢的影响

不同滞育阶段的大斑芜菁幼虫血淋巴中海藻糖和糖原含量如图1。从图1可以看出,滞育个体的血淋巴海藻糖含量高于非滞育个体,且随滞育时间的加大逐渐升高。滞育时间仅0.5个月和1个月的个体,海藻糖含量增加不多。滞育1个月以上至滞育末期,随着滞育时间的增加,海藻糖含量平均每个月增加约1 $\mu\text{mol/mL}$;滞育5个月时达到最大值,为5.61 $\mu\text{mol/mL}$ 。

血淋巴中糖原的含量随滞育的进程逐渐减少。非滞育个体中糖原含量较高,为0.58 mg/mL;滞育初期(0.5个月)为0.72 mg/mL;滞育2个月下降了约35%;滞育3个月时糖原含量仅为滞育初期的

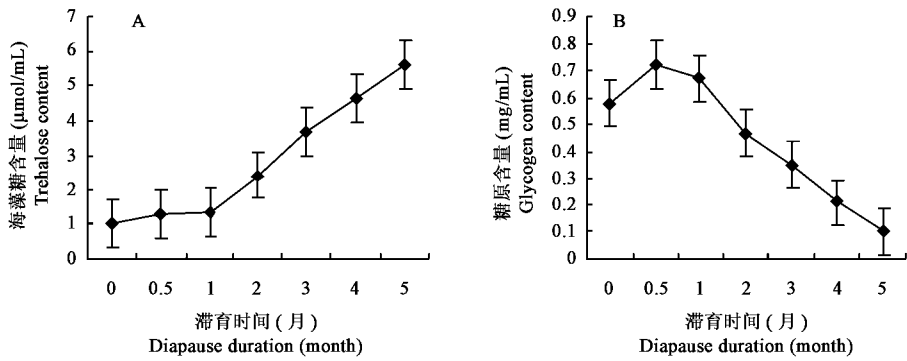


图 1 不同滞育时间的大斑芜菁幼虫血淋巴中的海藻糖 (A) 和糖原 (B) 含量

Fig. 1 Contents of trehalose (A) and glycogen (B) in the haemolymph of the diapausing larvae of *Mylabris phalerata*

50%。从滞育 1 个月至滞育末期,糖原含量的总体趋势直线下降,到滞育末期(5 个月)时仅为 0.1 mg/mL。

2.2 滞育时间对大斑芜菁滞育幼虫脂肪体中海藻糖和糖原代谢的影响

从图 2 可以看出滞育个体的脂肪体中含有了一定量的海藻糖。就海藻糖的含量而言,滞育个体都高于非滞育个体。但滞育初期(0.5 个月)的个体与非滞育个体差异不大,均为 0.5 $\mu\text{mol/g}$ 脂肪体左右。滞育 1 个月 after 增加明显,达到非滞育个体的 3 倍;至滞育 5 个月时(滞育末期)增加了约 2~4 倍,达到

非滞育个体的 5 倍,为 2.5 $\mu\text{mol/g}$ 脂肪体。

滞育早期和中期的糖原含量都高于非滞育个体,尤其是滞育 0.5 个月的个体,其糖原含量约为非滞育个体的 2 倍。滞育即将结束(滞育 5 个月)个体的糖原含量与非滞育个体差异不大。脂肪体中糖原含量的总体变化趋势是随滞育时间的加大逐渐减少。滞育即将结束(滞育 5 个月)时的糖原含量为 0.29 mg/g 脂肪体,仅为滞育初期(0.5 个月)0.61 mg/g 脂肪体的 50%。

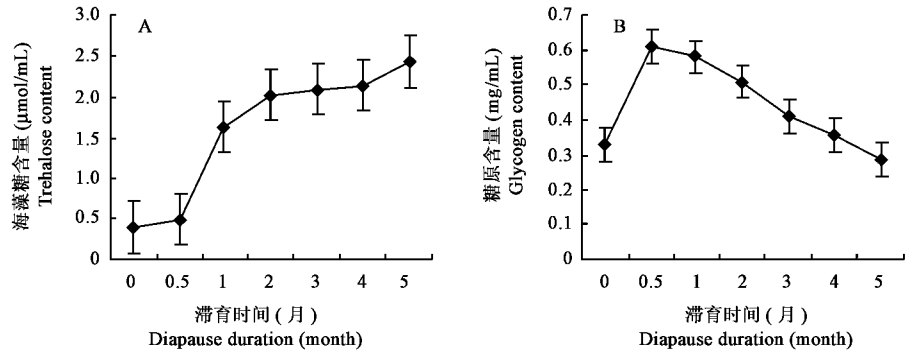


图 2 不同滞育时间的大斑芜菁幼虫脂肪体中的海藻糖 (A) 和糖原 (B) 含量

Fig. 2 Contents of trehalose (A) and glycogen (B) in fat body of the diapausing larvae of *Mylabris phalerata*

2.3 滞育时间对大斑芜菁滞育幼虫血淋巴中小分子多元醇代谢的影响

从图 3 可以看出,在滞育过程中,血淋巴中山梨醇含量随着滞育时间的加大呈增加趋势。滞育个体在滞育初期(0.5 个月)血淋巴中山梨醇含量与非滞育个体差异不大,之后含量迅速增加,滞育 1 个月时增加了约 1 倍,到滞育 3 个月时就增加到 6 倍,至滞育末期已达到 7.52 $\mu\text{mol/mL}$ 。

血淋巴中甘露醇含量在滞育个体与非滞育个体

间差异不大。在整个滞育期间血淋巴中甘露醇含量无明显变化。不同滞育时间的个体间,甘露醇的含量差异不大,含量保持在 6 $\mu\text{mol/mL}$ 左右,在滞育即将结束时含量略高,为 6.99 $\mu\text{mol/mL}$ 。

滞育个体血淋巴中甘油的含量大于非滞育个体,但滞育 0.5 个月和滞育 1 个月时差异不显著。滞育 1 个月 after,随滞育时间的增加,甘油含量增加。从滞育 3 个月开始,甘油含量超过 10 $\mu\text{mol/mL}$;滞育 5 个月时达到 13.46 $\mu\text{mol/mL}$,为非滞育个体的 2 倍。

从图 3 可以看出 ,滞育过程中血淋巴内甘油含量高于山梨醇含量和甘露醇含量 ,而甘露醇含量高于山梨醇含量。随着滞育时间的加大 ,血淋巴中山梨醇和甘油含量呈增加趋势 ,而甘露醇含量没有明显变化。

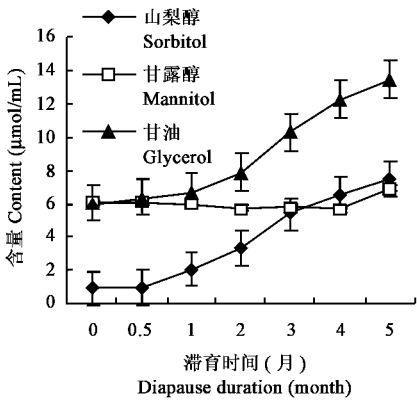


图 3 不同滞育时间的大斑芜菁幼虫血淋巴中的小分子醇类含量

Fig. 3 Contents of polyols in the haemolymph of the diapausing larvae of *Mylabris phalerata*

2.4 滞育时间对大斑芜菁滞育幼虫脂肪体中小分子多元醇代谢的影响

从图 4 可以看出滞育 0.5 个月的个体的脂肪体中山梨醇含量与非滞育个体间差异不大 ,滞育 1 ,3 ,4 ,5 个月的个体之间 ,脂肪体中山梨醇含量变化不大 ,其值都在 6 μmol/g 脂肪体左右波动 ,最大值出现在滞育中期(滞育 2 个月) ,为 9.22 μmol/g 脂肪体。

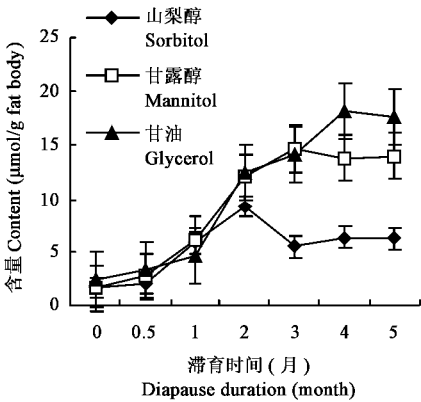


图 4 不同滞育时间的大斑芜菁幼虫脂肪体中的小分子醇类含量

Fig. 4 Contents of polyols in fat body of the diapausing larvae of *Mylabris phalerata*

脂肪体中甘露醇的含量在滞育个体与非滞育个体间差异较大 ,以滞育个体含量较高。在滞育初期

到滞育中期的一段时间 ,滞育个体的甘露醇含量随滞育的进程呈上升趋势 ,滞育 3 个月时达到 14.71 μmol/g 脂肪体。滞育 3 ,4 ,5 个月的个体之间 ,脂肪体中甘露醇的含量变化不大。

滞育个体脂肪体中甘油的含量大于非滞育个体 ,且随滞育时间的增加 ,甘油含量增加。滞育 0.5 个月和滞育 1 个月时增加量略小 ,其含量分别为 3.26 μmol/g 脂肪体和 4.67 μmol/g 脂肪体。滞育 2 ,3 ,4 ,5 个月时增加显著 ,滞育 2 个月时为非滞育个体的 6 倍 ;滞育 4 个月时达到最大值 ,为 18.24 μmol/g 脂肪体 ,为非滞育个体与滞育 0.5 个月个体的 7.6 倍和 5.6 倍。滞育 5 个月的个体与滞育 4 个月的个体相比 ,脂肪体中甘油的含量无太大变化。

3 讨论

许多滞育昆虫在越冬期间常通过积累糖类、糖原或小分子多元醇类来增加其抗寒性(Lee ,1991 ; Li et al . , 2000 ; Goto et al . , 2001)。有些种类积累糖原 ,并在次年春夏时能将糖原转化为糖类或醇类 (Storey and Storey , 1986 ; Rickards et al . , 1987) ;如马铃薯二十八星瓢虫 *Epilachna vigintioctomaculata* (Hoshikawa , 1987) 和黑脚黑守瓜 *Aulacophora nigripennis* 可将糖原转化为肌醇 (Watanabe and Tanaka , 1998)。灯蛾 *Cymbalophora pudica* 在滞育蛹中也会积累大量糖原(Kostal et al . , 1998)。而在我们的研究中 ,大斑芜菁滞育幼虫的血淋巴和脂肪体中主要积累的是海藻糖而不是糖原 ;在滞育前期 ,血淋巴中积累了大量的糖原 ;滞育进程中 ,随着滞育时间的延长糖原逐渐被消耗。这情况与大姬蛛 *Achaearanea tepidariorum* 从滞育诱导开始便积累肌醇、肌糖和山梨醇 ,且山梨醇的前体物是糖原 (Tanaka ,1992) 的报道相似。此外还有很多类似报道(Storey and Storey ,1986 ;Hoshikawa ,1987)。大斑芜菁在滞育过程中 ,随着滞育时间的增加 ,血淋巴中积累的小分子多元醇主要为甘油 ,其次是山梨醇 ,并不积累甘露醇 ;脂肪体中积累的小分子多元醇主要为甘油 ,其次是甘露醇 ,少量积累山梨醇。该结果表明 ,大斑芜菁滞育幼虫体内主要积累的是海藻糖和一些小分子多元醇 ;幼虫滞育前在血淋巴和脂肪体中储备了大量糖原 ,这些糖原可能为滞育期间海藻糖、山梨醇和甘油的代谢提供了原料。

参 考 文 献 (References)

- Denlinger DL, 1991. Relationship between cold hardiness and diapause. In : Lee RE Jr, Denlinger DL eds. Insects at Low Temperature. New York : Chapman and Hall. 174 – 198.
- Goto M, Sekine Y, Outa H, Hujikura M, Suzuki K, 2001. Relationships between cold hardiness and diapause, and between glycerol and free amino acid contents in overwintering larvae of the oriental corn borer, *Ostrinia furnacalis*. *J. Insect Physiol.*, 47 : 157 – 165.
- Gehrken U, 1984. Winter survival of an adult bark beetle *Ips acuminatus* Gyll. *J. Insect Physiol.*, 30 : 421 – 429.
- Goto M, Takahashi K, Suzuki C, 1993. Ecology study on barnyard grass stem borer *Enosima leucotaeniella* (Ragonot)(Lepidoptera : Pyralidae) VIII. Seasonal changes of carbohydrate contents in overwintering larvae. *Appl. Entomol. Zool.*, 28 : 433 – 437.
- Goto M, Sekine Y, Outa H, Hujikura M, Suzuki K, 2001. Relationships between cold hardiness and diapause, and between glycerol and free amino acid contents in overwintering larvae of the oriental corn borer, *Ostrinia furnacalis*. *J. Insect Physiol.*, 47 : 157 – 165.
- Hamilton RL, Mullins DE, Orcutt DM, 1985. Freezing tolerance in the woodroach *Cryptocercus punctulatus* (Scudder). *Experientia*, 41 : 1 535 – 1 537.
- Hoshikawa K, 1987. Interconversion between glycogen and inositol in hibernating adults of a phytophagous lady-beetle, *Epilachna vigintioctomaculata*. *Insect Biochem.*, 17 : 265 – 268.
- Kostal V, Sula J, Simek P, 1998. Physiology of drought tolerance and cold hardiness of the Mediterranean tiger moth *Cymbalophora pudica* during summer diapause. *J. Insect Physiol.*, 44 : 165 – 173.
- Lee RE, Chen CP, Denlinger DL, 1987. A rapid cold-hardening process in insects. *Science*, 238 : 1 415 – 1 417.
- Lee RE, 1991. Principles of insect cold hardiness. In : Lee RE Jr, Denlinger DL eds. Insects at Low Temperature. New York : Chapman and Hall. 17 – 46.
- Li YP, Gong H, Park HY, 2000. Biochemistry and physiological overwintering in the mature larvae of the pine needle gall midge, *Thecodiplosis japonensis* (Diptera : Cecidomyiidae) in Korea. *Cryo-Letters*, 21 : 149 – 156.
- Mansingh A, 1971. Physiological classification of dormancies in insects. *Canadian Entomologist*, 103 : 983 – 1 009.
- Pullin AS, Bale JS, 1989. Influence of diapause and temperature on cryoprotectant synthesis and cold hardiness in pupae of *Pieris brassicae*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 94A : 499 – 503.
- Pullin AS, Wolda H, 1993. Glycerol and glucose accumulation during diapause in a tropical beetle. *Physiol. Entomol.*, 18 : 75 – 78.
- Rickards J, Kelleher MJ, Storey KB, 1987. Strategies of freeze avoidance in larvae of the goldenrod gall moth, *Epiblema scudderiana* : winter profiles of a natural population. *J. Insect Physiol.*, 33 : 443 – 450.
- Ring RA, Danks HV, 1994. Desiccation and cryoprotection : overlapping adaptations. *Cryo-Letters*, 15 : 181 – 190.
- Shimada K, Sakagami SF, Honma K, Tsutsui H, 1984. Seasonal changes of glycogen, trehalose contents, supercooling point and survival rate in mature larvae of the overwintering soybean pod borer, *Leguminivora glyeiniuorella*. *J. Insect Physiol.*, 30 : 369 – 373.
- Somme L, 1982. Supercooling and winter survival in terrestrial arthropods. *Comp. Biochem. Physiol.*, 73A : 519 – 543.
- Storey JM, Storey KB, 1986. Winter survival of the gallfly larva, *Eurosta solidaginis* : profiles of fuel reserves and cryoprotectants in a natural population. *J. Insect Physiol.*, 32 : 549 – 556.
- Storey KB, Storey JM, 1988. Freeze tolerance in animals. *Physiol. Rev.*, 68 : 27 – 83.
- Storey KB, Storey JM, 1991. Biochemistry of cryoprotectants. In : Lee RE Jr, Denlinger DL eds. Insects at Low Temperature. New York : Chapman and Hall. 64 – 93.
- Tanaka S, 1992. The significance of embryonic diapause in a Japanese strain of the migratory locust *Locusta migratoria* (Orthoptera : Acrididae). *Jpn. J. Entomol.*, 60 : 503 – 520.
- Tauber MJ, Tauber CA, Masaki S, 1986. Seasonal Adaptations of Insects. Oxford University Press, New York.
- Watanabe M, Tanaka K, 1998. Adult diapause and cold hardiness in *Aulacophora nigripennis* (Coleoptera : Chrysomelidae). *J. Insect Physiol.*, 44 : 1 103 – 1 110.
- Zhu F, Xue FS, Lei CL, 2006. The effect of environmental conditions on diapause in the blister beetle, *Mylabris phalerata* (Coleoptera : Meloidae). *European J. Entomol.*, 102 : 531 – 535.

(责任编辑 : 黄玲巧)